

分析微生物学 专 辑

程 光 胜
朱 厚 方
周 主 编
王 大 韫
审 校

学 出 版 社

内 容 简 介

中国微生物学会普通微生物学专业委员会于1985年10月在武昌举办了第一届分析微生物学学术讨论会,此专辑是由大会论文报告和专题报告加工整理而成。专题报告部分介绍了现代分析技术和电子计算机技术在微生物学研究和应用工作中的现状和前景,取材新颖,侧重应用。论文报告部分基本上反映了分析微生物学在我国发展的现状。其中包括微生物细胞成分和代谢产物的分析及其应用,微生物降解产物的分析及其应用,分析裂解技术及其应用,数值分类法与计算机技术的应用,此外还介绍了初步开展的两种快速方法。

本书可供微生物学、分子生物学、生物化学、分析化学研究工作者和细菌分类鉴定、临床检验、卫生防疫、食品检验、环境监测工作者以及大专院校有关师生参考。

分析微生物学专辑

程光胜 朱厚础 周 方 主编

王大粗 审校

责任编辑 王惠君

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1988年7月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1988年7月第一次印刷 印张: 19 3/4 插页: 2

印数: 0001—4,460 字数: 451,000

ISBN 7-03-000324-1/Q·61

定价: 5.20元

前 言

分析微生物学是一门正在发展中的新学科,是利用色谱、光谱、质谱、波谱和电子计算机等现代技术来研究和应用微生物的边缘学科。目前分析微生物学多倾向于方法学的研究。它所涉及的范围很广,几乎与微生物学研究和应用的每一个领域都有密切的联系。微生物的化学分类、生理生化 and 遗传机理等的研究都已经并将继续得益于分析微生物学的方法。分析微生物学又是生物技术和生物工程的重要相关学科之一,承担着其中的繁重的分析任务。此外,在探索医学微生物检验和临床诊断的快速、自动化方法方面,分析微生物学也将贡献它自己的一份力量。

我国许多老一辈科学家对新技术的发展极为重视。他们认为,我国的微生物学工作必须在现有基础上再辟新径,努力将新技术新方法引入到微生物学的研究和应用领域中来。早在六十年代初期,国内就已有人注意到了现代分析技术在微生物学中的应用,并着手开展这方面的工作。但由于种种原因,进展缓慢,直到八十年代初才有了较大的发展。现在,所用分析方法已从个别手段如气相色谱发展到多种技术如气-质联用、高效液相色谱、光谱和电阻抗法等;研究对象也从细菌扩大到酵母、立克次体、病毒和疫苗等。且已开始较多方面应用计算机,如微生物化学模式识别和微生物学数据库等。这些工作也已从零星走向相对普及,从科研单位扩大到卫生防疫、商品检验、环境保护和临床检验等部门。现代分析技术的优点已逐渐为人们所认识和接受。

为促进分析微生物学工作的进一步发展,由中国微生物学会普通微生物学专业委员会主办,于1985年10月17至21日在武汉召开了第一届全国分析微生物学学术讨论会。来自全国二十七个省、市、自治区和中国人民解放军的科研单位、高等院校、卫生防疫、商品检验机构、医院和工厂的183名代表出席了会议,还有百余名旁听人员。会上,大会主席、中国微生物学会副理事长陈华癸教授致开幕词,武汉大学高尚荫教授和中国军事医学科学院副院长陈宁庆教授讲了话,中国医学科学院谢少文教授和中国微生物学会秘书长王大耜教授作了书面专题报告。会议期间还邀请正在我国访问的微生物分类学家、澳大利亚昆士兰大学V.B.D. Skerman教授作了关于微生物分类学新进展的专题报告。与会代表共宣读论文和专题报告53篇。这次会议是近年来我国分析微生物学工作的一次全面检阅,表明这一新学科的发展在我国已经有了一个良好的开端,对我国微生物学的发展将会起到一定的推动作用。

分析微生物学在我国还处于刚刚起步的阶段,研究工作尚未普遍开展。为引起更多同道者的重视,共同努力,把我国的分析微生物学工作推向新的阶段,我们将在第一届分析微生物学学术讨论会上宣读的论文和专题报告选编成这本专辑。收入的论文大多为初步的研究报告,会后经原作者修改成稿,我们本着对学术问题自由讨论、各抒己见的精神,除在文字上稍加润色外,基本未作改动。专题报告和综述都是从事实际工作的人员撰写的,会后作者们又花了大量的时间修改甚至重写,使本书的内容更加充实,希望这能为我国分析微生物学的进一步发展提供有益的参考资料。

本专辑的选编工作由程光胜、朱厚础和周方同志具体执行。在编辑和出版过程中，得到中国微生物学会和许多老前辈的指导和支持，科学出版社的同志们也给予了热情的关怀和帮助，在此谨向他们表示衷心感谢。

由于时间仓促，加之编者水平有限，错误和不当之处在所难免，恳请读者批评指正。

编 者

一九八六年二月于北京

技术与概念在科学发展中的重要性*

高 尚 荫

(武汉大学, 中国科学院武汉病毒研究所, 武汉)

一位分子生物学家最近说, 1985年的生物学已经和十年前的生物学大不相同, 生物学有了“爆炸性进展”(explosive advance)。事实确实如此。近年来出现的研究技术, 使过去最优秀的实验生物学家也难以进行的实验成为常规的实验室工作。分子生物学的新发展, 使生物工程产业以惊人的速度建立起来。更重要的是, 它改变了人们对生物体(从病毒到人类)的认识。

生物学在不久前还一直是描述性科学。成千上万的生物, 它们的种类、特性和结构等, 都是在整体或显微术水平上了解的。因而生物学家只能了解它们生命过程的结果, 而不是引起结果的动力。实验工作者可以观察到一种细菌的致病过程或一个胚胎的发育, 但是这些观察并不能为任何基本机理的真正了解提供线索。

显微术的发展大大增强了我们观察细胞和亚细胞的细胞器的能力。电镜术进一步显示了细胞的精微结构, 但它们的生命活动的基本机理并没有得到解释。这使我们认识到, 许多生物学现象的最后因果机理依赖于发挥作用的细胞内外的特异性分子。最重要的分子当然是带有遗传信息的DNA。现在DNA能被切开、修饰和重新结合, 能增多为许多拷贝, 并且有可能用DNA生产人们所需大小和成分的RNA, 再合成蛋白质分子。对于这些新的发展, 基因克隆技术(gene cloning technology)起了决定性作用。这项技术也是使生物学出现崭新面貌的主要原因。由于理论研究的需要而发展相应的技术和方法, 而技术和方法又反过来促进理论研究的深入, 两者是相辅相成的。基因克隆技术和生物学进展的关系正是如此。

这次第一届分析微生物学学术讨论会的召开, 如果我的理解是正确的话, 那就是交流和检阅我国几年来利用新技术和新方法为微生物学研究深入服务所取得的成绩。因此, 这次会议对今后我国微生物学的发展将起促进作用。这是我要讲的第一点。

我要讲的第二点, 是概念发展在科学进展中的地位。在人们心目中, “发现”是科学的象征。新的发现往往容易受到重视, 因此新闻界常以新的发现来衡量科学。诺贝尔提出“诺贝尔奖金”的条件时, 是以新的发现, 特别是对人类有益的发现为标准的。但是, 如果以为科学仅仅是事实的累积, 就会使人发生误解。在生命科学中, 可能同样也在其它科学中, 大部分主要进展是引出了新概念, 或改进了已有的概念。认识世界也可以说是通过概念的改进, 而不仅是新事实的发现而实现的, 当然两者是有联系的。1953年DNA双螺旋结构的发现, 使基因概念更新了, 从而将遗传学从“经典遗传学”发展为“分子遗传学”。因此在科学发展的过程中必须重视概念。

最后祝大会成功, 同志们身体健康!

* 这是高尚荫教授1985年10月17日在第一届分析微生物学学术讨论会开幕式上的发言。

团结、协作，促进分析微生物学的发展*

陈 宁 庆

(中国人民解放军军事医学科学院，北京)

首先，让我代表军事医学科学院向第一届分析微生物学学术讨论会的开幕表示热烈祝贺！今天有来自全国各地的一百多位同行来参加这次学术讨论会，充分说明，分析微生物学这门新兴的边缘学科已经受到工业、农业和医学等各行各业的重视。社会需要是科学发展的最强大的推动力。我相信，通过这次会议，分析微生物学定将进一步向更深更广的方面发展。

科学的发展离不开研究工具的革命。显微镜的发明为人类揭示微生物世界打开了大门。固体培养基的发明，使人们可以把一些种类不同的细菌区分开来。生物化学和免疫学方法以及电子显微镜的引进，使微生物学的发展进入到一个新的层次。新的分析技术，如气相色谱、质谱和电子计算机联用等技术的出现，将使微生物分类鉴定深入到分子水平。有些分析工作，用常规分析化学方法很难完成，即使能分析也需要很长时间，而气相色谱对混合在一起的多种有机化合物的分离能力很强，数十种有机化合物的混合溶液的分离只需几十分钟或几个小时。质谱仪则对各种化合物的鉴别能力极强，即使分子量很接近的化合物也能鉴别出来。再加上电子计算机能迅速检索有成千上万种已知化合物的数据库并把结果打印出来。因此这三种仪器的联用必将大大推进分析微生物学的发展。我相信，随着分析技术和分析仪器的不断革新，分析微生物学将为工农业生产作出更大的贡献。

最后，对如何发展我国分析微生物学，提几点意见供大家参考。

一、要发挥我国社会主义大协作的优势。只要我们充分发挥社会主义制度的优越性，把力量统一地、合理地组织起来。人数少，也可以比资本主义国家同等数量的人办更多的事，取得更大的成就。依靠社会主义大协作，我们独立自主地研制成了原子弹、氢弹，在国际上，我国首先人工合成了牛胰岛素。分析微生物学在我国是一门年轻的学科，力量比较薄弱，大型仪器设备还不多，这就更需要协作。

但是，当前协作遇到不少困难，我认为主要是思想认识问题。只要大家以发展我国的分析微生物学事业为己任，以国家、民族利益为重，我以为协作过程中的具体问题是

不难解决的。

二、分析微生物学是一门边缘学科，它本身就说明这项工作单靠微生物学家或分析化学家是不行的，必须依靠微生物学家、分析化学家和其他有关专家共同合作才能发展分析微生物学。双方都学一些对方的专业知识，这样才有共同语言。同时，还必须注意互相尊重对方的劳动。“友谊和谅解比什么都重要”这句话也同样适用于新学科的发展。

* 这是陈宁庆教授1985年10月17日在第一届分析微生物学学术讨论会开幕式上的发言。

三、要加强与国内外同行间的交流。目前科学技术发展迅速，日新月异，这是全世界范围内进行的一场激烈的竞赛，闭关自守就必然落后。当然，技术核心或专利是要保密的，但保密也只是暂时的，有了新进展，老的就可以解密，而且一些新的思路是可以交流的。交流的重要性大家嘴上都会说，但做起来就不容易。在一些人的思想上，总认为保密才能保住自己的成果和领先地位，而事实上靠保密和垄断来保持领先地位是长不了的。真正先进的学术地位只有在不断交流中不断创新并依靠集体努力才能保住。为争取在国际竞赛中发展我国的分析微生物学，我希望同志们以“国家队”的身份到国际舞台上去争个高低。为了加强国内同行间的交流，我建议先办一个内部的不定期刊物。

在这次会议上，论文报告者都是中青年同志，这是很可喜的现象，它预示着我国分析微生物学的发展方兴未艾，充满希望。

预祝大会成功！

目 录

前言

技术与概念在科学发展中的重要性·····	高尚荫 (vii)
团结、协作, 促进分析微生物学的发展·····	陈宁庆 (viii)

第一部分 专题报告

免疫反应在微生物检验中的应用·····	谢少文 (1)
化学分类法在细菌分类中的作用·····	程光胜 萧昌松 (4)
细菌分类学中的新技术·····	洪俊华 王大稻 (11)
微生物快速诊检技术的发展与自动化·····	程知义 (29)
免疫荧光和免疫发光技术在微生物学中的应用·····	黄 策 (36)
分析微生物学中的分析裂解技术·····	周 方 (45)
高效液相色谱概论及其在分析微生物学中的应用潜力·····	姚志建 (63)
细菌细胞成分的气相色谱分析·····	周 方 (69)
细菌DNA中G + C含量测定和核酸分子杂交技术及其在细菌分类鉴定中的应用·····	林万明 (88)
分析微生物学中的数据处理·····	朱厚础 (99)

第二部分 研究工作报告

细胞脂肪酸气相色谱图鉴别细菌的研究·····	周 方、朱厚础、唐光江、高树德 (116)
全细胞脂肪酸气相色谱法鉴别莫拉氏菌和军团杆菌·····	周 方、朱厚础、唐光江、王以政、张绪团、高树德、 邱明庆、钟文蓬、赵 林、王 陵、梁 朝 (122)
黄单胞菌多糖XA ₅ 的气相色谱分析·····	崔文华、王修垣、刘秀芳 (128)
高效反相液相色谱测定细菌细胞DNA中的碱基成分·····	姚志建、郭燕捷、周 方、朱厚础、郭兆彪、林万明 (132)
气相色谱法研究五种分枝杆菌的呼吸特性·····	汪齐芳、梅国华、郭 煜、窦德灵 (136)
气相色谱法测定结核菌耐药性·····	梅国华、程冬娥、蔡玉珍 (141)
应用气相色谱鉴定人体双歧杆菌及其相关菌属的初步观察·····	冯 旭、刘秉阳 (145)
厌氧菌葡萄糖终末代谢产物的分析·····	张根生、赵 莉、徐迪诚、 张 澜、李连洁 (148)
芝麻香风味白酒香味成分分析。I. 有机酸类·····	陆懋荪、祁昭禄、关家锐、刘春胜 (151)
芝麻香风味白酒香味成分分析。II. 酚类化合物·····	

.....	陆懋荪、关家锐、李关寅、石艳萍	(154)
气相色谱法在大豆根瘤菌共生效应研究中的应用.....	樊 蕙、徐玲玫、葛 诚	(158)
用气相色谱法测定Frankia菌的自生固氮活性.....		
.....	丁 鑑、张忠泽、李忠伟、苏凤岩、崔玉海	(162)
气相色谱法测定Frankia菌纯培养固氮酶活性的研究.....		
.....	莫海云、郝家骐、袁长芳、翟云梅	(165)
气相色谱法测定固氮螺菌的酶活性.....	王子芳、曾宽容、杨一平、周亿闰	(168)
气相色谱测定氧化亚氮的方法及其应用.....		
.....	李良谟、伍期途、周秀如、李振高、潘映华	(172)
微生物对石油降解率的气相色谱分析.....	史乐文	(177)
气相色谱在微生物处理混合炸药废水分析中的应用.....		
.....	李文忠、杨彦希、尹 萍	(180)
气液色谱在微生物降解MIPC农药研究中的应用.....	罗清修、朱湘民	(184)
用气相色谱法检测微生物对多氯联苯的降解作用.....		
.....	刘红果、张秀文、王孔星、赖林翰、简浩然	(188)
微生物对 β -六氯化苯的降解与菌体内积聚的气相色谱检测.....		
.....	王孔星、谢裕敏、赖林翰、简浩然	(191)
应用裂解气相色谱法鉴定酵母菌的初步研究.....		
.....	黄如林、霍瑞贞、姚 敏、钟佩珩	(194)
氮磷鉴定器裂解气相色谱法区分嗜热脂肪芽孢杆菌.....		
.....	周 方、朱厚础、刘聿太、王大粗	(198)
嗜麦芽假单胞菌的裂解气相色谱鉴定.....	彭珍荣、达世禄、王中华、李长胜	(203)
毛细管柱裂解色谱法鉴别细菌的研究.....		
.....	潘承荣、陈玉堂、李翠波、隋英祝、张宇琴、张存玲	(207)
裂解气相色谱法鉴别10株肠道杆菌的初探.....	常培尧、孟澍英、古惠英	(213)
裂解气相色谱测定八种肠道菌.....		
.....	崔 镜、王宝山、张梦萍、沈慧灵、张淑贞、陆佩华	(216)
裂解气相色谱法鉴定细菌.....	袁曾麟、肖 磊、牛景金	(219)
裂解气相色谱法检验中成药中大肠杆菌的试验研究.....		
.....	贾彦龙、王兆林、李瑞萍、成世和、刘凤霞、李 彦、李聿明、 阚志军、王鸿聚、彭天虞、郑 林、曲雨明、林 虹	(223)
9株耶尔森氏菌的裂解气相色谱分析.....		
.....	周忠文、姚敬业、葛葆垌、徐凤霓、方 昉	(227)
裂解气相色谱法对金黄色葡萄球菌分型的初步探讨.....		
.....	张宝恩、陈自明、张 淼、马 彦	(230)
免疫裂解气相色谱法快速鉴定模拟临床标本中E1 Tor弧菌的初步研究.....		
.....	谭 立、安秀英、谢瑜桂	(235)
裂解气相色谱法鉴定脆弱类杆菌初探.....	陶新华、董家新、谭 立	(239)
马鼻疽和类鼻疽杆菌全细胞的气相色谱分析.....		

.....周 方、朱厚础、唐光江、古惠英、韩耦儿、李 闹	(243)
裂解气相色谱法鉴定冻干生物制品可行性的初步观察.....李甲旭	(249)
根瘤菌的数值分类.....陈文新、骆传好	(250)
系统聚类分析在细菌全细胞脂肪酸模式识别中应用初探.....	
.....朱厚础、周 方、唐光江	(256)
构建DNA物理图谱的计算机方法.....李先强、丁达明	(263)
微生物学数据库.....赵玉峰	(269)
有机元素分析法鉴别细菌的初步研究.....盛世淑、金人慈	(289)
电阻抗法检测临床菌尿症的原理和应用.....马家琪、张宝恩、陈自明	(293)
电阻抗测试仪(WKY-1型)快速检测细菌的生长.....	
.....魏墨林、马家琪、王藏徐、田广州	(298)

第一部分 专题报告

免疫反应在微生物检验中的应用

谢 少 文

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京)

在应用微生物学领域中, 分析微生物学一直是重要的课题。特别是近年来, 细胞生物学、分子遗传学、生物化学、生物物理学以及免疫学进一步渗透到分析微生物学中, 出现了好几类新的方向, 如分子杂交, 同位素标记代谢产物以及气相色谱法等。

分析微生物学的重要内容之一是企图在传统的培养、形态、细菌生理等方法的基础上寻求比较快速、简单而特异的新方法, 但上述几种方法大多仍不能脱离各种增殖的步骤, 因为致病菌在体内的数量有限, 要适应上述种种方法, 在一般情况下还必须进行培养, 才能达到分析的目的。

目前在国内外, 免疫学方法显示了很大的优越性。这种方法可直接从某些标本中检出原标本中的微生物, 也就是用抗体测定微生物的抗原。用近年来出现的某些免疫学测定方法, 几十个皮克即可得到正确的鉴定结果。

早在二十世纪初期, 学者们就已经发现抗脑膜炎球菌所致脑膜炎的分泌物中, 出现了特异性的沉淀物。至1917年, Doshey和Avery曾使抗肺炎球菌的抗血清与病人血清中的特异性可溶性物质发生沉淀反应, 而沉淀的量同疾病的严重程度有关。在1951年, Neill进一步发现, 除脑脊液外, 隐球菌感染病人的血清及尿中都有可与抗血清发生沉淀的抗原, 也可以出现补体结合反应。这样, 许多研究家都开始应用各种免疫学的方法, 同时不断提高方法的敏感性并保留其特异性, 使抗体测定抗原的检验方法达到新的水平。现将有关情况简述如下。

1. 对流电泳沉淀法 最早应用的沉淀方法敏感性较低, 试验时间较长。例如, 最快的快速方法是已知抗体和待查抗原分别加入琼脂的相对小孔中, 通电进行电泳, 促使抗原抗体间的泳动, 可在二小时内用肉眼观察到沉淀线。这个方法已应用多年, 一些代表性的临床结果列表如下(见表1)。

表1 脑脊液中几种常见细菌检测结果

致病 菌	、病 人 数	镜 检 阳 性	培 养 阳 性	对流电泳阳性
脑膜炎球菌	135	101	135	121
肺炎球菌	55	44	40	54
流感杆菌	132	108		113
溶血链球菌	87		87	70

除脑脊液中抗原成分较多,可直接得到阳性结果外,也可以浓缩脊水,使肺炎球菌等渗出物提高60%,还可检查病人尿中的抗原作为补充试验,可得到50%的阳性。在此还可指出,为测脑膜炎球菌抗原,也可采用与其有交叉抗原的大肠杆菌抗K抗体,亦可得到70%左右的阳性结果。

肺炎球菌感染的肺炎及菌血症,由于其血、尿及痰中含有较大量的可溶性多糖抗原,阳性率可从15%到100%,其结果往往比血培养要高,而且速度更快。对胸水感染标本,对流电泳报告结果的速度要比培养法更快。

对流电泳需要适当比例的抗原抗体,如果抗原量较少,所用抗体量必须稀释,否则会出现假阳性结果。

2. 乳胶试验 这种方法比沉淀反应更敏感,而且可以不受抗原抗体需适当比例的限制。已采用多种载体同抗体致敏来进行反相血凝或乳胶试验等,尤以聚苯乙烯颗粒试验较为常用。聚苯乙烯微球最适直径为0.81微米, pH为8.2—9.0, 若低于pH8.0可出现自凝,若高于pH10则无凝集。致敏抗体也以80—320微克Ig最合适,反应时间是2小时。通常用得最普通的试验是检测尿中的雌性激素,作为早期妊娠诊断,同时也可应用于脑膜炎及乙型肝炎表面抗原的检测。其缺点是有时因类风湿因子(Rf)的干扰而出现假阳性,但这可用非抗体的Ig来排除,也可用56℃加热30分钟或2-巯基乙酸来破坏。

3. 放射免疫试验 这是近年来广泛采用的一种最敏感、客观的定量免疫测定法。它有好几种类型,简称RIA,现介绍两种常用方法所得某些微生物抗原的测定结果(见表2)。

表2 某些微生物抗原的RIA测定结果

方 法	感 染	敏 感 度	标 本	阳 性	假 阳 性
直接固相测定	葡萄球菌	1 μ g/ml	血 清	12/12	0/52
	军团菌	—	尿	9/9	0/241
	念珠菌	100ng/ml	血 清	19/27	0/15
	腺病毒	0.1ng/ml	粪 便	4/4	3/295
	轮状病毒	—	粪 便	36/36	1/78
液相抑制试验	脑膜炎球菌	0.5ng/ml	脑 脊 液	34/38	—
	流感杆菌	0.5ng/ml	脑 脊 液	14/15	0/22
	白色念珠菌	100ng/ml	血 清	19/27	0/15

由表2看出,RIA的抗原测定是很敏感而特异的,它普遍用于HBV感染的测定。主要缺点是工作人员可能会受到射线的有害影响,所用仪器尚未广泛使用。另外,所用抗体还必须通过长期免疫以使亲和性增高。

4. 酶免疫测定法(EIA) 这是一类最新的免疫学方法,它与RIA的主要不同点是用酶结合的抗体或抗原,它们与相应抗原及抗体结合后,可用显色法来显示结果。它既不需要放射性同位素,也不太受保存试剂时间的限制。在各类方法中以酶联免疫吸附试验法(ELISA)应用日益增加。现将三种测定带乙肝表面抗原的结果进行比较(见表3)。

表 8 三种方法测HBsAg (大量) 的比较

EIA +	rHA +	EIA + rHA -	EIA - rHA +	EIA - rHA -
RIA +	1,785	384	72	114
RIA -	39	383	282	5,154

从表 3 可见, RIA比EIA更敏感, 而EIA比RIA特异性较差。因此, 在分析免疫诊断结果时, 必须注意提高特异性, 同时不降低敏感性。

化学分类法在细菌分类中的作用

程光胜 萧昌松

(中国科学院微生物研究所, 北京)

第九版《伯杰细菌鉴定手册》在谈到化学分类法时, 有这样一段话:

“过去二十年左右, 在细菌的鉴定和分类方面, 利用化学和物理学技术揭示细胞的整个或部分化学组分的工作获得了极有价值的信息。某些资料已证明是如此有用, 以至于‘化学分类法’一词已经屡屡出现于文献中了。”

在细菌分类学中, 化学分类法是指根据细菌的特征性化学组分对细菌进行分类。本文拟简述这一新方法在细菌分类中的作用。

一、化学分类法的诞生

分类学又称系统学, 它是生物学中最古老的学科之一。这门科学研究生物机体的多样性及它们的亲缘关系。

实际上, 人们在发现细菌的同时, 就已开始其分类学的工作。吕文虎克在发现细菌时, 已根据它们的形态对细菌进行了原始的分类。二百年后, 经过巴斯德、柯赫, 以及后来的克鲁维 (Kluyver) 和其他人的工作, 以形态和习性为主要依据的分类逐步结合了诸如能量代谢类型等生物化学特性。尽管某些生化特征的试验早就被用于细菌分类, 但那还不是化学分类。这种分类方法在细菌分类学的发展中起过巨大的作用, 但分类学家越来越感到这种方法的局限性, 依靠较少的经主观选择的特征很难解决某些类群细菌的明确归属, 例如棒状菌群的分类常使分类学家感到困惑。

本世纪三十年代, 有人曾对某些微生物产生的色素的结构与该微生物的分类地位之间的关系进行过研究, 可认为这是化学分类的开始。五十年代以后, 由于分子生物学方法的发展, 象G + C含量测定, 脂肪酸分析等逐步变成细菌分类的常规方法, 这时, 化学分类法才正式诞生了。化学分类法使细菌分类学家看到的一个突出结果便是, 靠化学方法, 人们更加明确了放线菌是不同于真菌的原核生物。

狭义地说, 化学分类法只对那些有助于确定某个种分类地位的化合物 (如氨基酸、蛋白质、糖类、脂肪等) 的不连续分布情况感兴趣。有人曾用下页图表示了在分类学中有作用的生物高分子和其他化合物 (图1) 的一般相互关系。

可以说, 在化学分类法正式诞生前, 化学特征虽然也用于分类学, 但那只不过是生物化学和化学研究的副产品。只有到灵敏的新分析技术引入分类学之后, 化学分类学才成了整个细菌分类学中不可分割的一部分。这些新的分析技术包括色谱技术、凝胶电泳技术以及各种免疫学技术。由于这些技术的应用, 分类学家可以收集整体和部分的、基因组及其它组分的化学数据, 以便对每一个种作出精确的鉴定, 对许多菌株之间的亲缘

曾有人证明,质粒的外形与状态对乳链球菌的鉴定有重要意义^[4]。对某些革兰氏阴性杆菌的鉴别也可能具有重要意义^[5]。这对于临床诊断,将开辟一个新的检验途径。有人认为这种方法,在流行病学上可能比噬菌体分型更有作用。

Bφvre^[6]曾证明,细胞内遗传分析也可用作一般的分类学资料。因为亲缘关系相近的成员之间基因转移和重组的频度必然比那些相距较远的成员之间要高。但是,检测基因转移的技术在细菌分类中还未广泛采用。不过,比较染色体图谱及研究噬菌体寄主范围,在分类学上也会有重要意义,随着技术的发展,这种方法会普遍被分类学家使用。Prauser^[7]曾论述过噬菌体寄主范围在分类鉴定革兰氏阳性有分枝的及有关细菌中的作用。多价噬菌体曾被用来决定基因水平上的裂解图谱。

(二) 蛋 白 质

DNA是全部分类信息的源泉,这些密码翻译成氨基酸的聚合物,就产生了第二类大分子——蛋白质。蛋白质对于分类也是重要的。由于蛋白质更容易提纯,结构也比核酸简单些,而且可以比较多种方法所得结果,所以分析蛋白质对于分类资料的获得更方便些,也较少花费。在后天性状方面,特定的同源蛋白质的比较分析,为确定细菌间的亲缘关系提供了一种精确的方法。至于以凝胶电泳分析比较蛋白质的类群和比较某特定代谢途径中酶合成的调节机制,则是更进一步的后天性状分析。

氨基酸序列在某种特定蛋白质中因物种不同而改变,是演化过程中发生歧化的反

表1 细菌核酸和蛋白质中的化学分类信息

大分子	分 析 技 术	在分类上的作用
DNA	G+C摩尔百分比	定 属
	DNA-DNA杂交重组	
	基因组大小	定种或亚种
	限制性内切酶酶切片段的电泳	
	质粒的状态	
	噬菌体寄主范围	
RNA	细胞内基因分析	定属或属以上阶元
	DNA-RNA杂交重组	
	序列分析图谱	
蛋白质	二级结构	定属或定种
	特定蛋白质	
	氨基酸序列	
	免疫学分析	定属或定种
	蛋白质类群	
	电泳图谱	定属或定种
	酶谱及活性	

映。例如细胞色素C的氨基酸序列的改变就是突出的证明。在细菌中,近年来 Ambler^[8]曾作过这方面的工作。这种改变还可以用血清学方法来检测。在这方面,已发现血清学的相似性与特定蛋白质的同源程度有很大的相关性,而后者与16SrRNA的分析又有很大的相关性。

在蛋白质分析中,电泳法也许是最有用、较简单又较省力的方法,因而在分类学中用得最广泛。这种方法可以容易地比较由一定基因组编码的许多种蛋白质。亲缘关系近的细菌的电泳图谱很类似,甚至完全相同。因而在医学细菌的鉴定、某确定属的细菌中变异范围的决定以及确定某种特定的酶谱对分类是否有意义等方面都大有用处。

表1总结了由细菌核酸和蛋白质的分析中可能得到的信息。

三、细菌包被中的化学分类信息

一切有机分子都是由核酸编码的信息表达的结果,而凡是对分类有意义的分子都是不同物种间呈不连续分布的。例如细菌的革兰氏染色,现在已经知道,正是由于这些原核生物细胞壁在结构和化学成分上的明显不同,才出现染色阳性和阴性两大类细菌。而这应归功于Salton在1952年分离了细胞壁。今天,人们从细菌包被中获得的化学分类信息是多种多样的,基本上可用表2来概括。

有细胞壁的细菌,壁的基本成分是肽聚糖,肽聚糖是由氨基聚糖为骨架通过四肽链

表2 细菌包被中的化学分类信息

位 置	组 分
质 膜	类异戊二烯醇类 脂溶性色素 脂磷壁酸及类似物 极性脂类 { 脂肪酸 类异戊二烯醇 其它长链组分
壁	蛋白质 肽聚糖及类似物 多 糖 磷壁质及类似物
外 膜	
革兰氏阴性细菌	脂多糖 { K抗原 O抗原 极性脂类
革兰氏阳性细菌	结合脂类——枝菌酸 分离脂类 { 糖脂 硫代糖脂 脂